

課題番号	LS037
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	味物質受容の相乗・相殺効果を利用した食品デザインの新展開
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授
氏名	三坂 巧

1. 当該年度の研究目的

本研究においては味覚受容体発現細胞を用いて、味の相乗・相殺のメカニズムを、味覚受容体とリガンドとの相互作用という観点から解析する。具体的には味覚受容体発現細胞の味物質への応答測定の際に、種々の構造を持つ物質を共存させて活性を測定し、相乗・相殺効果を有する物質の同定を行う。23年度については、ヒト甘味受容体安定発現細胞を用い、スクロースに対する細胞応答について、活性を変化させる物質について探索を行う。また食品中からの活性画分探索の際に支障となる、自家蛍光物質共存下における細胞応答測定系の改良についても実施する。

2. 研究の実施状況

我々が構築した、高い応答性を有するヒト甘味受容体安定発現細胞を用いて、甘味料に対する細胞応答を増強させる物質について探索を行った。その結果、ネオヘスペリジンジヒドロカルコンやシクラメートといった低分子化合物に、スクロースを含む多種類の甘味料に対する細胞応答を、相乗的に増強する作用があることを見出した。また、酸性条件下で強い甘味を呈することが知られているミラクリンという味覚修飾タンパク質について、弱酸性領域においては他の甘味物質の甘味を増強する作用があることを世界で初めて見出した。このように、研究当初の目的であった、甘味を相乗的に増強する物質の探索に成功したといえる。

また、味覚受容体に対して相乗・相殺効果を有する物質を新たに検索するためには、多様な構造を持つ物質群からスクリーニングを行う方法が有効である。そこで、多様な構造を有する化合物が含まれており、かつ食品に使用実績のある香料成分を対象とし、呈味物質と共存させた際に受容体応答が変化する効果が認められるかどうかについて、評価を開始している。

一方、本実験系では細胞応答測定を行う際に、カルシウム感受性蛍光指示薬の蛍光強度変化を指標に測定を行っている。食品中には蛍光を発する物質が多数含まれているため、この手法では食品中からの活性画分探索において、細胞応答を正しく評価できないという問題点があった。そこで、励起光を照射することなく細胞応答の測定が可能である発光タンパク質を利用し、応答測定系の改良を試みた。改良測定系においては、甘味物質に蛍光物質を共存させた場合においても、細胞応答が正しく測定できることが示されたことから、食品を対象とした呈味強度の測定に大きく貢献する測定手法であるといえる。

様式19 別紙1

以上の結果を含め、23年度には原著論文を13報発表することができ、本研究課題について大きく進展したといえる。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計13件
計13件	<p>1. Ito, K.*, Hikida, A., Kitagawa, S., <b>Misaka, T.</b>, Abe, K., and Kawarasaki, Y.          "Soy peptides enhance heterologous membrane protein productivity during the exponential growth phase of <i>Saccharomyces cerevisiae</i>."  <b>Biosci. Biotechnol. Biochem.</b>, <b>76</b>, 628–631 (2012.3)  <a href="https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/3/76_110965/_article">https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/3/76_110965/_article</a></p> <p>2. Ishii, S., Kishi, M., Yamagami, K., Okada, S., Abe, K., and <b>Misaka, T.*</b>          "Use of mammalian cultured cells loaded with a fluorescent dye shows specific membrane penetration of undissociated acetic acid."  <b>Biosci. Biotechnol. Biochem.</b>, <b>76</b>, 523–529 (2012.3)  <a href="https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/3/76_110824/_article">https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/3/76_110824/_article</a></p> <p>3. Hara, K., Inada, Y., Ono, T., Kuroda, K., Yasuda-Kamatani, Y., Ishiguro, M., Tanaka, T., <b>Misaka, T.</b>, Abe, K., and Ueda, M.*          "Chimeric yeast G-protein alpha subunit harboring a 37-residue C-terminal gustducin-specific sequence is functional in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>."  <b>Biosci. Biotechnol. Biochem.</b>, <b>76</b>, 512–516 (2012.3)  <a href="https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/3/76_110820/_article">https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/76/3/76_110820/_article</a></p> <p>4. Fujiwara, S., Imada, T., Nakagita, T., Okada, S., Nammoku, T., Abe, K., and <b>Misaka, T.*</b>          "Sweeteners interacting with the transmembrane domain of the human sweet-taste receptor induce sweet-taste synergisms in binary mixtures."  <b>Food Chem.</b>, <b>130</b>, 561–568 (2012.2)  <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461101034X">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461101034X</a></p> <p>5. Toda, Y., Okada, S., and <b>Misaka, T.*</b>          "Establishment of a new cell-based assay to measure the activity of sweeteners in fluorescent food extracts."  <b>J. Agric. Food Chem.</b>, <b>59</b>, 12131–12138 (2011.11)  <a href="http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf2029835">http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf2029835</a></p> <p>6. Koizumi, A., Tsuchiya, A., Nakajima, K., Ito, K., Terada, T., Shimizu-Ibuka, A., Briand, L., Asakura, T., <b>Misaka, T.*</b>, and Abe, K.*          "Human sweet taste receptor mediates acid-induced sweetness of miraculin."  <b>Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.</b>, <b>108</b>, 16819–16824 (2011.10)  <a href="http://www.pnas.org/content/108/40/16819.long">http://www.pnas.org/content/108/40/16819.long</a></p> <p>7. Yao, R., Yasuoka, A., Kamei, A., Kitagawa, Y., Rogi, T., Tateishi, N., Tsuruoka, N., Kiso, Y., <b>Misaka, T.</b>, and Abe, K.*          "Polyphenols in alcoholic beverages activating the constitutive androstane receptor, CAR."  <b>Biosci. Biotechnol. Biochem.</b>, <b>75</b>, 1635–1637 (2011.8)  <a href="https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/8/75_110444/_article">https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/8/75_110444/_article</a></p> <p>8. Nakajima, K., Koizumi, A., Iizuka, K., Ito, K., Morita, Y., Koizumi, T., Asakura, T., Shimizu-Ibuka, A., <b>Misaka, T.</b>, and Abe, K.*          "Non-acidic compounds induce the intense sweet taste of neoculin, a taste-modifying protein."</p>

	<p><b>Biosci. Biotechnol. Biochem.</b>, <b>75</b>, 1600–1602 (2011.8)  <a href="https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/8/75_110081/_article">https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/8/75_110081/_article</a></p> <p>9. Asakura, T., Miyano, M., Yamashita, H., Sakurai, T., Nakajima, K., Ito, K., <b>Misaka, T.</b>, Ishimaru, Y., and Abe, K.*          “Analysis of the interaction of food components with model lingual epithelial cells: The case of sweet proteins.”  <b>Flavour Fragr. J.</b>, <b>26</b>, 274–278 (2011.7)  <a href="http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.2073/abstract">http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.2073/abstract</a></p> <p>10. Ueno, Y., Sakurai, T., Okada, S., Abe, K., and <b>Misaka, T.*</b>          “Human bitter taste receptors hTAS2R8 and hTAS2R39 with differential functions to recognize bitter peptides.”  <b>Biosci. Biotechnol. Biochem.</b>, <b>75</b>, 1188–1190 (2011.6)  <a href="https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/6/75_100893/_article">https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/6/75_100893/_article</a></p> <p>11. Nakajima, K., Yokoyama, K., Koizumi, T., Koizumi, A., Asakura, T., Terada, T., Masuda, K., Ito, K., Shimizu-Ibuka, A., <b>Misaka, T.</b>, and Abe, K.*          “Identification and modulation of the key amino acid residue responsible for the pH sensitivity of neoculin, a taste-modifying protein.”  <b>PLoS One</b>, <b>6</b>, e19448 (2011.4)  <a href="http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0019448">http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0019448</a></p> <p>12. Ito, K., Ito, S.*, Shimamura, T., Weyand, S., Kawarasaki, Y., <b>Misaka, T.</b>, Abe, K., Kobayashi, T., Cameron, AD., and Iwata, S.          “Crystal structure of glucansucrase from the dental caries pathogen <i>Streptococcus mutans</i>.”  <b>J. Mol. Biol.</b>, <b>408</b>, 177–186 (2011.4)  <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283611001859">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283611001859</a></p> <p>13. Izuchi, R.*, Nakai, Y., Takahashi, H., Ushiyama, S., Okada, S., <b>Misaka, T.</b>, and Abe, K.          “Hepatic gene expression of the insulin signaling pathway is altered by administration of persimmon peel extract: a DNA microarray study using type 2 diabetic goto-kakizaki rats.”  <b>J. Agric. Food Chem.</b>, <b>59</b>, 3320–3329 (2011.4)  <a href="http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf102422z">http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf102422z</a></p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表  計 22 件</p>	<p>専門家向け 計 21 件</p> <p>1. <b>三坂 巧</b>          「食品研究とケミカルバイオロジー 甘・酸・塩・苦・旨味感覚を例にして」          食品ニューテクノロジー研究会、東京、2011 年 4 月、日本食糧新聞社主催</p> <p>2. <b>三坂 巧</b>          「味覚シグナルと味の認識」          第 4 回 東京アンチエイジングアカデミー、東京、2011 年 5 月</p> <p>3. <b>三坂 巧</b>          「ヒト甘味感覚計測系の開発および食品成分の呈味評価」          日本動物細胞工学会 2011 年度大会、東京、2011 年 7 月</p> <p>4. 秦 健敏、田澤 茂実、太田 象三、柳 美羅、<b>三坂 巧</b>、市原 賢二          「ブラジル産グリーンプロポリスに含まれる辛味成分」          日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月</p>

5. 金田 康平、中島 健一郎、小泉 太一、朝倉 富子、阿部 啓子、三坂 巧  
「味覚修飾タンパク質ネオクリンのシステインバリエーション作製とその機能解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
6. 小泉 太一、寺田 透、中島 健一郎、小島 正樹、金田 康平、朝倉 富子、阿部 啓子、三坂 巧  
「味覚修飾タンパク質ネオクリンにおける pH 依存的構造変化の NMR による検出」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
7. 尹 滔文、三坂 巧  
「ヒト甘味受容体と甘味タンパク質の間における直接相互作用のキネティクス解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
8. 黒川 あずさ、應本 真、阿部 啓子、三坂 巧  
「味蕾におけるアノクタミンファミリーの細胞種特異的発現」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
9. 姚 瑞卿、安岡 顕人、櫛木 智裕、北川 義徳、柴田 浩志、阿部 啓子、三坂 巧  
「セサミンとエピセサミンの投与によるマウス肝臓の遺伝子発現変動の比較解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
10. 山本 遼、岡田 晋治、三坂 巧  
「短期食餌性亜鉛欠乏がもたらすラットの味嗜好性変化の解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
11. 齊藤 健佑、高木 陽介、岡田 晋治、三坂 巧  
「塩封入人工餌を用いた小型魚類の塩味嗜好性の解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
12. 藤原 聡、中北 智哉、岡田 晋治、齋藤 佳奈、南木 昂、阿部 啓子、三坂 巧  
「フレーバー化合物によるヒト甘味受容体活性化機構の解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
13. 中北 智哉、藤原 聡、赤尾 寛子、南木 昂、三坂 巧  
「シナムアルデヒド構造類縁体が有するヒト甘味受容体活性調節機構の解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
14. 戸田 安香、三坂 巧  
「蛍光物質を含有するリガンドを測定可能な客観的甘味評価系の開発」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
15. 鈴木 あゆ、中北 智哉、三坂 巧  
「甘味受容体におけるアルコール類の相互作用部位の同定」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
16. 前田 尚廣、黒川 あずさ、山本 くるみ、長井 千草、石丸 喜朗、應本 真、三坂 巧、松本 一郎、阿部 啓子  
「味神経における味覚情報コーディング機構の解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
17. 家木 誉史、岡田 晋治、藍原 祥子、應本 真、阿部 啓子、安岡 顕人、三坂 巧  
「メダカ PLC-β2 発現細胞を起点とした経シナプス性トレーサー輸送の経時的解析」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月
18. 池永 直弥、家木 誉史、岡田 晋治、三坂 巧  
「メダカを用いた新規経シナプス性トレーサー探索系の開発」  
日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月

様式19 別紙1

	<p>19. 伊藤 俊輔、川上 晋平、應本 真、岡田 晋治、藍澤 広行、<b>三坂 巧</b> 「脳味覚野・体性感覚野における SNAP25 遺伝子発現の離乳マウスにおける経時的変化」 日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月</p> <p>20. 松田 龍星、櫻井 敬展、石丸 喜朗、森 直紀、渡邊 秀典、<b>三坂 巧</b>、阿部 啓子、朝倉 富子 「ヒト上皮ナトリウムチャンネル活性化剤 S3969 の蛍光膜電位測定による活性評価」 日本農芸化学会 2012 年度大会、京都、2012 年 3 月</p> <p>21. Ieki, T., Okada, S., Aihara, Y., Ohmoto, M., Abe, K., Yasuoka, A., and <b>Misaka, T.</b> Transgenic labeling of the gustatory neural pathway originating from phospholipase C-<math>\beta</math> 2-expressing taste receptor cells in medaka fish AChemS XXXIII, St.Pete Beach (FL, USA), 2011/4</p> <p>一般向け 計 1 件 1. 三坂 巧 「味覚シグナル伝達機構と培養細胞系による呈味の評価」 エヌ・ティー・エス主催セミナー、東京、2011 年 10 月</p>
<p>図書 計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>生物機能開発化学研究室ホームページ、<a href="http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/biofunc/">http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/biofunc/</a></p> <p>「味覚修飾タンパク質ネオクリンの pH 依存的活性を決定づけるアミノ酸残基の同定」、東京大学 農学生命科学研究科 研究成果、<a href="http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2011/20110519-1.html">http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2011/20110519-1.html</a></p> <p>「酸っぱいものを甘くするミラクリンの不思議を分子レベルで解き明かす」、東京大学 農学生命科学研究科 プレスリリース、<a href="http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2011/20110927-1.html">http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2011/20110927-1.html</a></p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>『味覚の不思議』～味を感じる仕組みを知ろう！～、2011/12/3、東京・四谷(リパネスカフェ)、参加者 20 名 研究活動の内容や成果を社会、国民に対して説明する双方向コミュニケーション活動として、リラックスした 雰囲気の中で積極的な対話を行える形式である「サイエンスカフェ」を実施した。高校生から60代の方まで、 幅広い年代の方々に参加をしていただき、約2時間の間、発表ならびに意見交換を行った。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 2 件</p>	<p>・日本経済新聞 2011 年 9 月 27 日 夕刊 18 面、「酸っぱくて甘く感じる果実 味覚狂わす仕組み解明」</p> <p>・日本経済新聞 2011 年 10 月 16 日 朝刊 15 面、「ナゾ謎かがく 酸っぱいものがなぜ甘く？」</p>
<p>その他</p>	<p>特になし</p>

4. その他特記事項

特になし。

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	135,000,000	67,400,000	0	67,600,000	0
間接経費	40,500,000	20,220,000	0	20,280,000	0
合計	175,500,000	87,620,000	0	87,880,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	66,450,064	0	0	66,450,064	51,254,286	15,195,778	0
間接経費	20,220,000	0	0	20,220,000	0	20,220,000	0
合計	86,670,064	0	0	86,670,064	51,254,286	35,415,778	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	42,891,967	細胞実験用試薬、細胞応答測定装置 等
旅費	894,300	研究成果発表旅費(海外学会) 等
謝金・人件費等	3,545,011	短時間雇用職員給与 等
その他	3,923,008	論文出版・別刷費、英文校閲費 等
直接経費計	51,254,286	
間接経費計	0	
合計	51,254,286	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
CO <sub>2</sub> インキュベーター	Thermoフォーム ステリサイクル	1	2,467,500	2,467,500	2011/4/27	東京大学
Biacore T200 Upgrade Kit	GEヘルスケア ジャパン	1	2,677,500	2,677,500	2011/5/18	東京大学
純水製造システム	日本ミリポア社 MilliQ Integral	1	2,457,000	2,457,000	2011/6/21	東京大学
倒立顕微鏡	カールツァイス社 Primo Vert	1	847,350	847,350	2011/7/19	東京大学
ルミネッセンスブ レートリーダー	ベルトールド社 Centro XS3 LB96	1	4,158,000	4,158,000	2011/7/20	東京大学
冷却CCDカメラ(含 ソフトウェア、PC)	日本ローパー社 CoolSNAP HQ2	1	2,950,500	2,950,500	2011/9/12	東京大学
プリントグラフ	アトー AE-6932GXES-U	1	840,000	840,000	2011/11/17	東京大学
分光蛍光光度計	日本分光社 FP-8500	1	2,873,850	2,873,850	2011/12/13	東京大学
セルベースアッセイ ワークステーション	モレキュラーデバ イス FlexStation	1	9,999,150	9,999,150	2012/2/22	東京大学
プリントグラフ	アトー AE-6932GXES-U	1	840,000	840,000	2012/2/29	東京大学
CO <sub>2</sub> インキュベーター	Thermo Formaダ イレクトヒート310	1	1,486,800	1,486,800	2012/3/13	東京大学
バイオクリーンベン チ	サンヨー MCV-B131S	1	1,173,900	1,173,900	2012/3/13	東京大学